

Capítol 6

Desenvolupament de microelèctrodes basats en compòsits conductors rígids

6.1. Introducció

Tal com s'ha dit prèviament, en el present treball s'han desenvolupat materials sensors electroquímics basats en compòsits conductors rígids compatibles amb medis orgànics. Ara bé, aquests medis són altament resistius, i en algunes ocasions la solubilitat dels electròlits suport és massa baixa com per aconseguir augmentar la conductivitat dels esmentats medis.

La utilització de microelèctrodes permet la realització d'anàlisis electroquímiques en medis altament resistius¹, ja que la intensitat que es genera a la seva superfície és molt petita, de manera que la caiguda del potencial deguda al producte de la resistència de cel·la i la intensitat és també petita. També permeten registrar intensitats en intervals de temps molt petits, ja que minimitzen la constant de cel·la, fent possible estudis cinètics de reaccions ràpides, i fins i tot mesurar la concentració d'espècies amb temps de vida curts^{2,3}.

Des del punt de vista analític, la utilització de microelèctrodes presenta avantatges clars especialment pel que fa a la mida de la mostra, ja que en aquest cas, els volums de mostra requerits són més petits. Per una altra banda, resulten especialment útils en l'anàlisi clínica i *in vivo*, ja que tot i que continuen sent sistemes invasius, produeixen menys danys als éssers vius, i permeten realitzar mesures en medis de dimensions reduïdes.

A part dels avantatges esmentats al paràgraf anterior, en el present treball s'utilitzen microelèctrodes per dos motius bàsics. Per una banda, demostrar la versatilitat en quant a formes i mides dels elèctrodes construïts emprant els composts conductors rígids desenvolupats a la part II d'aquest treball. Per una altra banda, el fet de treballar amb medis orgànics de vegades presenta problemes respecte als electròlits suport (que poden ser poc solubles o bé formar parells iònics) i per tant ser poc conductors, de manera que la utilització de microelèctrodes pot solucionar els problemes de caiguda òhmica per efecte de la resistència, i a més fer possible la mesura de corrents en medis altament resistius.

6.1.1. Microelèctrodes: mides i formes

Tot i que els microelèctrodes han estat aplicats com a sensors des dels anys 40 en la determinació d'oxigen en teixits biològics⁴, no és fins als anys 80, quan la indústria metal·lúrgica ha avançat prou, posant a l'abast microfils metàl·lics (or i platí) de diàmetres de l'ordre dels micròmetres, que els microelèctrodes són més àmpliament utilitzats.

En l'actualitat, es poden trobar microelèctrodes de formes diverses, però les més freqüents es mostren a la figura 6.1.1-1. Com es pot veure en aquesta figura, les formes més freqüents són microdisc, microanella, cilíndrica i en forma de bandes. D'aquestes geometries, el microdisc és la més àmpliament emprada en recerca electroquímica, probablement degut a la simplicitat de construcció i al fet que la seva superfície pot ser polida. La segona geometria més emprada és la cilíndrica, seguida en percentatges molt inferiors de les geometries en forma d'anella i bandes, i ja de forma més puntual es poden trobar microelèctrodes esfèrics o semiesfèrics.

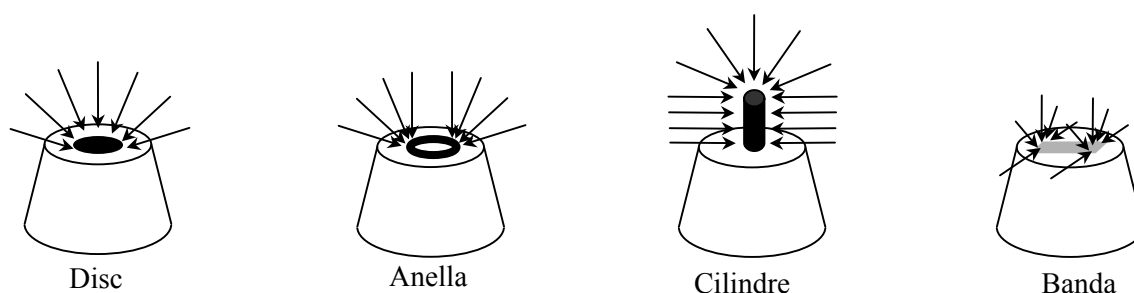


Figura 6.1.1-1. Esquema de les geometries més freqüents trobades per microelèctrodes. Les fletxes indiquen els camps de difusió corresponents per cada geometria

Els materials més emprats en la construcció de microelèctrodes són platí, fibra de carboni i or, tot i que existeixen alguns exemples de microelèctrodes de mercuri, iridi, níquel, plata o inclús ceràmiques superconductores⁵.

Els microelèctrodes amb forma de banda, cilíndrics o en forma de disc es construeixen mitjançant el recobriment d'un fil metàl·lic amb material aïllant, normalment vidre, mentre que els elèctrodes esfèrics o semiesfèrics normalment es construeixen mitjançant electrodeposició de mercuri sobre un microelèctrode de platí o d'iridi.

Els arranjaments i feixos de microelèctrodes són considerats per alguns autors com a un tipus de geometria dels microelèctrodes³. Fins al moment, les tècniques més comunes per a la fabricació d'arranjaments de microelèctrodes són tècniques microlitogràfiques, mitjançant la immobilització d'un gran nombre de fils metàl·lics en suports no conductors, o mitjançant l'electrodeposició de mercuri o platí en els porcs d'una membrana polimèrica.

6.1.2. Propietats electroquímiques dels microelèctrodes

Tradicionalment, els experiments electroanalítics s'han portat a terme emprant macroelèctrodes, amb diàmetres de l'ordre dels mil·límetres. La utilització de microelèctrodes amb diàmetres de l'ordre dels micròmetres fa que les propietats electroquímiques siguin força diferents a les d'un macroelèctrode.

Les reduïdes dimensions de la superfície dels microelèctrodes afecta el tipus de difusió de la substància electroactiva cap a la superfície del microelèctrode. La figura 6.1.2-1 mostra voltamperogrames cíclic obtinguts amb un microelèctrode de platí de 25 µm de diàmetre en variar el potencial seguint una ona triangular, en acetonitril amb electròlit suport i en presència de ferroccè, a diferents velocitats d'escombrat.

La gràfica de la dreta mostra un voltamperograma cíclic obtingut escombrant a 16 V·s⁻¹. El voltamperograma comença a -0.3 V, que és un potencial al qual no es té reacció electroquímica. A mida que el potencial es varia cap a valors mes positius, el potencial s'acosta cap al potencial de mitja ona pel ferroccè i el corrent registrat comença a augmentar, fins que arriba un punt que l'electròlisis fa que la concentració de ferroccè de la capa de difusió de l'elèctrode disminueixi, de manera que el corrent també comença a disminuir fins assolir de nou el valor del corrent de fons, formant així un màxim a la corba corrent vs potencial. Aquest màxim es genera degut a que la velocitat d'electròlisis és molt superior a la velocitat a la qual l'espècie electroactiva pot difondre cap a la superfície de l'elèctrode. A aquestes velocitats tan elevades, la majoria de la difusió és lineal cap a la superfície del microelèctrode (figura 6.1.2-2 a), de manera que la corba corrent-potencial conté informació tant de la concentració de l'espècie electroactiva com del règim de difusió.

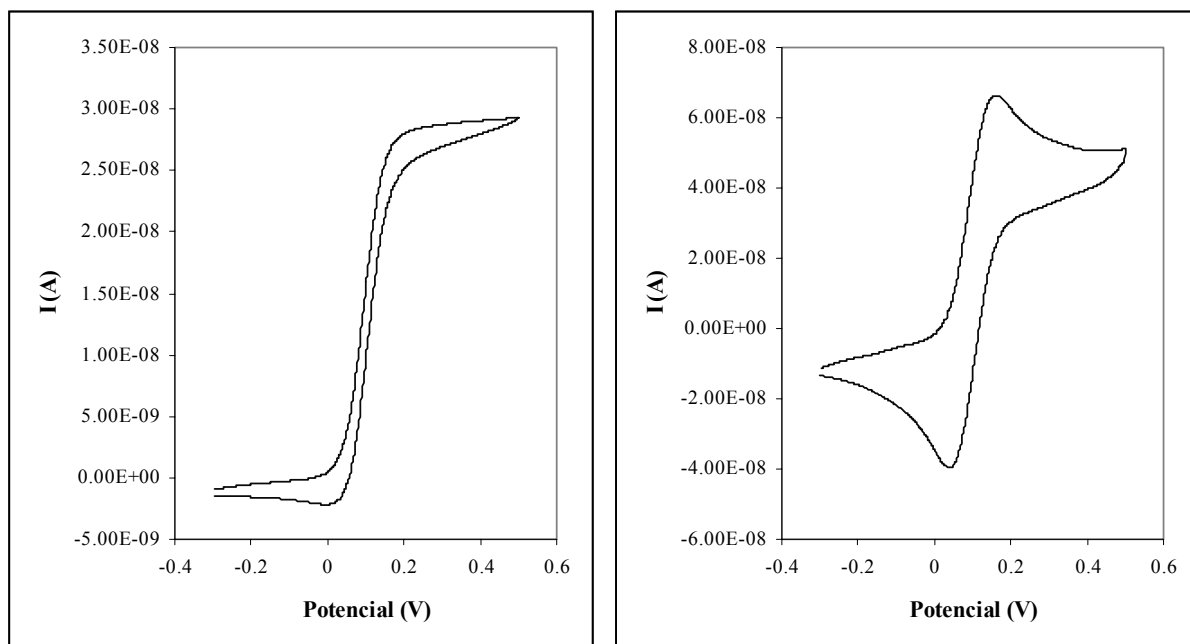


Figura 6.1.2-1. Voltamperogrames cíclics obtinguts amb un microelèctrode de platí de 25 μm de diàmetre en acetonitril amb ferrocè 2 mM i TBAP 0.1 M a 0.1 V/s (esquerra) i 16 V/s (dreta). L'elèctrode de referència és un elèctrode de Ag/Ag^+ i els experiments es van realitzar a temperatura ambient.

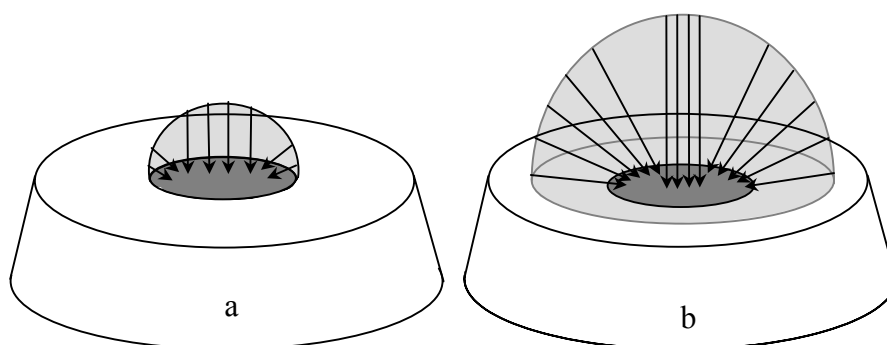


Figura 6.1.2-2. Esquema del tipus de difusió cap a la superfície d'un microelèctrode, (a) a temps curts i (b) a temps llargs.

Durant la meitat reversa de l'ona triangular es produeix l'electròlisi del producte de la reacció anterior, és a dir, el ferrocè que s'ha oxidat a ferricini es redueix de nou a ferrocè, de manera que també es produeix corrent en la direcció oposada de l'escombrat de potencial. El voltamperograma cíclic que es mostra a la figura 6.1.2-1 (a) es va obtenir emprant un microelèctrode, però és representatiu de la resposta típica per un macroelèctrode convencional.

Aquest mateix experiment, realitzat amb un microelèctrode però a velocitat d'escombrat prou baixa, genera el voltamperograma cíclic que es mostra a la figura 6.1.2-1 (dreta). En aquest cas, no s'obtenen pics sinó que a potencials prou positius s'assoleix el que s'anomena estat estacionari, que

apareix degut al fet que la velocitat d'electròlisi és aproximadament igual a la velocitat de difusió de les molècules d'espècie electroactiva cap a la superfície de l'elèctrode. En escombrar a una velocitat més baixa, es dona temps a que la difusió radial cap a la vora de la superfície de l'elèctrode sigui comparable a la difusió perpendicular de manera que el transport de massa cap a la superfície de l'elèctrode és més eficient (figura 6.1.2-2 (b)). Amb un elèctrode de mida convencional, aquest efecte és difícil d'aconseguir, de manera que per tal d'obtenir voltamperogrames cíclics amb estat estacionari cal escombrar a una velocitat extremadament petita, per tal que la difusió radial sigui apreciable. Portant aquest exemple al límit, per un microelèctrode de diàmetre de l'ordre dels nanòmetres, cal esperar que l'electròlisi sigui el pas limitant de forma que els voltamperogrames obtinguts haurien de ser sigmoïdals i sense histèresi, seguint l'equació de Nerst.

Aquesta contribució en el corrent de la difusió radial rep el nom d'«efecte de les vores» i ha estat estudiat en profunditat per diversos autors, sent el treball d'Oldham⁶ un dels treballs analítics més rigorosos sobre aquest fenomen.

Les reduïdes dimensions dels microelèctrodes no només afecten el tipus de difusió de l'espècie electroactiva cap a la superfície de l'elèctrode, sinó que també té una gran influència en la capacitat del condensador format per la superfície de l'elèctrode i la doble capa electroquímica, i en el valor de la seva resistència. Tal com es va explicar al capítol 4, la resistència de l'elèctrode ve donada per l'equació (6.1.2-1).

$$R = \frac{1}{4 \cdot \kappa \cdot r} \quad (6.1.2-1)$$

on κ és la conductivitat específica del medi, r és el radi de l'elèctrode; i la capacitat de la doble capa, C_{dc} , ve donada per l'equació (6.1.2-2).

$$C_{dc} = \pi \cdot r^2 \cdot C_{dc}^0 \quad (6.1.2-2)$$

on C_{dc}^0 és la capacitat específica de la doble capa. Així doncs, cal esperar que per microelèctrodes la resistència sigui molt superior, ja que augmenta a mida que el radi de l'elèctrode disminueix, mentre que la capacitat disminueix en disminuir-se el radi de l'elèctrode. Aquests efectes resultaran en una disminució de la constant de cel·la, ja que la constant de cel·la és el producte de la resistència per la capacitat, de manera que es tindrà:

$$RC \propto \frac{1}{r} \cdot r^2 (= r) \quad (6.1.2-3)$$

de manera que la constant de cel·la serà proporcional al radi, i a mida que aquest disminueixi, també ho farà el valor de la constant de cel·la. Constants de cel·la petites es traduiran en temps de resposta més baixos i per tant l'elèctrode respondrà més ràpidament als canvis de potencial aplicat que en macroelèctrodes, cosa que permetrà emprar microelèctrodes en l'estudi de reaccions de transferència electrònica ràpida.

Un problema comú quan s'empren macroelèctrodes és el que s'anomena caiguda òhmica. Quan es generen corrents faradaics i corrents de càrrega a través d'una solució, es genera un potencial que actua disminuint el potencial aplicat. Aquest potencial té un valor equivalent a iR , on i és el corrent total que flueix a través de la solució i R és la resistència de cel·la. Aquest fenomen genera distorsions en la resposta experimental dels macroelèctrodes. Emprant microelèctrodes es redueix significativament aquest efecte, ja que els corrents faradaics registrats són normalment uns sis ordres de magnitud inferiors, de forma que minimitzen el valor de iR fins i tot treballant en medis orgànics.

Donat que el transport de massa cap a la superfície de l'elèctrode és predominantment lineal a temps curts i radial a temps llargs, es pot realitzar un estudi de la caiguda òhmica depenent de l'escala de temps a la que es treballa. A temps curts, quan la difusió de l'espècie electroactiva cap a la superfície de l'elèctrode és predominantment lineal, es té que el corrent és proporcional a la superfície de l'elèctrode, seguint l'equació (6.1.2-4):

$$i_t = \frac{n \cdot F \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C_0}{\pi^{1/2} \cdot t^{1/2}} \quad (6.1.2-4)$$

on A és la superfície de l'elèctrode (πr^2), D_0 és el coeficient de difusió de l'espècie electroactiva, C_0 és la concentració d'espècie electroactiva al si de la solució, F és la constant de Faraday, n és el nombre d'electrons bescanviats i t és el temps. Com que la resistència augmenta en disminuir el radi de l'elèctrode, el producte iR disminuirà en disminuir el radi de l'elèctrode, de manera que la caiguda òhmica a temps curts emprant microelèctrodes serà molt petita, no només degut al fet que el corrent registrat és molt petit, sinó al fet que a temps curts la caiguda òhmica és proporcional al radi de l'elèctrode. A temps llargs, però, el corrent depèn únicament del radi i esdevé independent del temps (és el corrent a l'estat estacionari), tal com es pot veure a l'equació (6.1.2-5):

$$i_{ss} = \frac{n \cdot F \cdot A \cdot D_0 \cdot C_0}{r_s} \quad (6.1.2-5)$$

de manera que a temps llargs el producte iR és independent del radi. Tot i així, emprant microelèctrodes aquest producte hauria de ser prou baix, ja que els corrents registrats seran molt petits.

6.1.3. Microelèctrodes com a sensors electroquímics

El comportament dels microelèctrodes difereix substancialment de l'observat en macroelèctrodes⁷. Aquest comportament presenta una sèrie d'avantatges que fan dels microelèctrodes unes eines analítiques d'elevat interès especialment per sistemes biològics o anàlisis on es requereixen dimensions reduïdes.

Des del punt de vista electroanalític, la utilització de microelèctrodes presenta nombrosos avantatges⁵. Per una banda, permeten la determinació simultània de la concentració i del coeficient de difusió de l'espècie electroactiva mitjançant la combinació dels corrents d'estat estacionari (equació (6.1.2-5)) i del depenent del temps (equació (6.1.2-4)). Així, a partir de l'equació (6.1.2-4) es pot

obtenir $D_0^{1/2} \cdot C_0$ i de l'equació (6.1.2-5) s'obté $D_0 \cdot C_0$, de manera que dividint aquest darrer pel valor obtingut per $D_0^{1/2} \cdot C_0$ s'obté $D_0^{1/2}$ i substituint aquest valor en qualsevol de les dues expressions obtingudes a partir de les equacions anteriors es pot obtenir C_0 .

L'elevada sensibilitat, baixos corrents i la relativa immunitat als efectes òhmics fan que emprant microelèctrodes es puguin fer anàlisis amperomètrics emprant únicament dos elèctrodes o en medis amb elevada resistència elèctrica, tals com solvents orgànics. Aquests atributs han permès que en emprar microelèctrodes s'ampliés el ventall de medis disponibles per l'anàlisi amperomètrica, permetent l'aplicació de microelèctrodes en anàlisis d'aliments o de terres⁸. A més, estudis realitzats per Caudill *et al.*⁹ mostren que les fonts de soroll més freqüents són proporcionals a la superfície de l'elèctrode mentre que la intensitat de corrent faradaic és proporcional a $A^{2/3}$, per tant, les relacions senyal/soroll registrades als microelèctrodes haurien de ser més elevades, permetent minimitzar els límits de detecció¹⁰. Per altra banda, les reduïdes mides dels microelèctrodes permeten realitzar estudis de mostres molt petites, com monocristalls, tals com els estudiats per Kim *et al.*^{11,12}; la monitorització de productes de reacció formats en punts concrets de superfícies, tal com el treball publicat per Sakai *et al.*¹³, o inclús, com es veurà més endavant en aquesta mateixa secció, l'estudi d'estructures biològiques *in vivo*.

Donat el creixent interès en les anàlisis en solvents orgànics, és important el desenvolupament de sensors que a més de ser compatibles amb aquests medis, siguin capaços de generar bones respostes que permetin límits de detecció baixos. Però la utilització de solvents orgànics en anàlisis amperomètriques té una limitació molt important, que és la baixa solubilitat de la majoria de sals emprades com a electròlits suport en aquests medis. Un medi sense sal inerta presenta resistències molt elevades que generaran caigudes òhmiques molt importants emprant macroelèctrodes, i en cas d'una concentració massa baixa, l'obtenció de senyal distingible del soroll de fons pot resultar totalment impossible. Per tant, per tal de realitzar mesuraments amperomètrics en medis altament resistius cal la utilització de microelèctrodes. Així, es poden trobar diversos exemples a la literatura on s'apliquen microelèctrodes amb fins analítics en medis molt diversos, com el treball d'Ewing *et al.*¹⁴ on es demostra la viabilitat de realitzar anàlisis amperomètriques en medis sense electròlit suport emprant microelèctrodes en forma d'anella de manera que en evitar l'addició d'electròlit suport es minimitza la concentració d'impureses que podrien ser interferents, disminuint-se, així, els límits de detecció.

La mida dels microelèctrodes és un paràmetre limitant a l'hora de realitzar anàlisis en medis resistius, tal com van comprovar Bond *et al.*¹⁵ quan van desenvolupar un microelèctrode de platí de 25 μm de radi per estudiar la transferència de càrrega del ferroçè en acetonitril en absència d'electròlit suport. Van observar que emprant aquest microelèctrode obtenien voltamperogrames cíclics amb una elevada distorsió deguda a la caiguda òhmica, i van determinar que per tal d'obtenir voltamperogrames cíclics amb una mínima distorsió caldria emprar microelèctrodes de radi molt més

petit. Ciskowska i Stojek¹⁶ van arribar a aquesta mateixa conclusió a través del seu treball, el qual va consistir en el desenvolupament d'arranjaments de 65 microelèctrodes d'aproximadament 4.7 µm de radi per estudiar les oxidacions de diverses molècules, tals com oxigen, fenol, antracè, fenantrè i hexacianoferrat(III), en aigua i clorobenzè. Van comprovar la viabilitat d'utilitzar aigua sense cap mena d'electròlit suport, mentre que en el cas del clorobenzè va caldre una certa concentració d'electròlit suport, com a mínim $5 \cdot 10^{-2}$ M, per tal d'obtenir els voltamperogrames cíclics, ja que el clorobenzè té una permitivitat elèctrica molt baixa, de 5.62 mentre que la de l'aigua és 78.5, de manera que les caigudes òhmiques són excessivament elevades. Per evitar la utilització d'electròlit suport caldria reduir encara més el radi dels microelèctrodes.

Donat que la difusió cap a la superfície dels microelèctrodes és predominantment esfèrica, aquests són immunes a la convecció i a les turbulències. Aquesta característica junt amb la seva reduïda mida que permet la mesura de volums petits en cavitats de dimensions reduïdes, fan dels microelèctrodes i dels feixos de microelèctrodes uns bons detectors de HPLC i d'electroforesi capil·lar^{9,17,18}.

En el treball de Bixler i Bond¹⁸, no només s'aprofità la capacitat dels microelèctrodes de determinar analits en medis altament resistius, sinó que també aprofiten la seva immunitat a la convecció i a les turbulències. Així, van aplicar microelèctrodes com a detectors cromatogràfics i de sistemes d'injecció en flux emprant com a medi analític acetonitril amb una concentració d'electròlit suport de l'ordre dels micromols per litre.

Altres autors han emprat medis orgànics o amb baix contingut d'electròlit suport per realitzar estudis cinètics i mecanístics. Un exemple interessant és el treball de Norton *et al.*¹⁹ on s'estudia la influència de la concentració de sal inerta en les successives transferències electròniques del tetratiafulvalè (TTF) i del tetracianoquinodimetà (TCNQ). Els autors van observar que alguns dels corrents limitants de les transferències electròniques (corrent màxim dels voltamperogrames cíclics amb estat estacionari) disminuïen en absència d'electròlit suport i van atribuir aquest fenomen a una migració induïda pel camp elèctric de les espècies carregades al si de la solució. Així, aquest treball demostrà que la migració afecta en gran mesura al corrent de l'estat estacionari quan la concentració de sal inerta és comparable o inferior a la concentració de l'espècie electroactiva.

Un altre exemple on es fa palès l'efecte de la migració es troba en el treball de Howell i Wightman², on es desenvolupen i caracteritzen microelèctrodes de radi inferior a 7 µm emprant or, platí i fibra de carboni. En aquest treball, els autors mostren els avantatges d'emprar aquest tipus d'elèctrodes per realitzar voltamperometria d'alta i baixa velocitat, així com la viabilitat de realitzar mesures amperomètriques en medis altament resistius, en aquest cas acetonitril en absència d'electròlit suport, i de mesurar constants cinètiques de reaccions de transferència electrònica i de reaccions acoblades a transferències electròniques. Al llarg dels experiments realitzats en absència d'electròlit suport es van adonar d'un augment de la histèresi dels voltamperogrames cíclics a mida que la concentració d'electròlit suport es reduïa, fenomen que van atribuir a la migració del ferroçè després

de ser oxidat ja que el ferricini està carregat positivament, de manera que van concloure que quan la concentració d'electròlit suport és inferior a la concentració d'espècie electroactiva els efectes de migració són importants i cal tenir-los en compte. Tot i així, demostren la possibilitat d'obtenir voltamperogrames cíclics molt poc distorsionats en medis altament resistius si s'empren microelèctrodes de radi prou petit. Cooper i Bond²⁰ van realitzar un estudi amb l'objectiu de trobar una correlació entre els processos de migració i els valors de iR (caiguda òhmica) obtinguts en solvents no polars amb baix contingut d'electròlit suport o en absència del mateix per espècies carregades i neutres, i una de les propietats dels solvents, com ara la permitivitat elèctrica, la polaritat, la viscositat o el grau d'autodissociació del mateix. Tot i que van aconseguir veure tendències generals amb cada una de les propietats físiques dels solvents, no van aconseguir trobar cap correlació que fos aplicable sistemàticament. El motiu d'aquesta manca de correlació és que la migració i els valors de iR no només depenen d'una propietat del solvent, sinó de la combinació de totes. El que sí que van observar és que la caiguda òhmica no només depèn de les propietats dels solvents, sinó que està relacionada amb la migració de les espècies electroactives. Així, per un mateix solvent amb una resistència concreta, quan les espècies electroactives estan carregades amb el mateix signe que l'elèctrode, migraran en sentit contrari a la seva superfície i la caiguda òhmica serà major que quan estan carregades amb signe contrari a la superfície de l'elèctrode, de manera que aquestes espècies migraran cap a l'elèctrode.

També s'han realitzat estudis de films polimèrics electroactius en medis altament resistius emprant microelèctrodes, com és el treball de Geng *et al.*²¹ on s'estudia la difusió de càrrega electrònica a través d'un polímer d'osmi i d'un basat en ferroçè en un medi de toluè amb baix contingut d'electròlit suport o en absència del mateix.

Però medis amb un baix contingut d'electròlit suport o l'absència total del mateix no són les úniques causes d'una baixa conductivitat elèctrica, sinó que una baixa temperatura també pot provocar un augment dràstic en la resistència elèctrica forçant la utilització de microelèctrodes tal com es mostrà al treball de McDevitt *et al.*²². Altres exemples de medis altament resistius amb els quals es van emprar microelèctrodes són medis sòlids tals com monocristalls rígids²³ i electròlits polimèrics semirígids²⁴.

Per altra banda, la utilització de microelèctrodes permet reduir el temps de resposta requerit ja que es produeix un transport de massa més eficient cap a la seva superfície, com mostra el treball de Harman i Baranski²⁵, el qual suggereix que mètodes d'escombrat ràpid no només disminueixen el temps d'anàlisi sinó que a més augmenten la sensibilitat ja que els corrents registrats són més elevats.

Altres àrees en les quals els microelèctrodes presenten avantatges interessants són en les anàlisis clíniques de sistemes biològics i en la mesura de constants cinètiques.

Pel que fa a anàlisis clíniques de sistemes biològics, el fet que les dimensions de la superfície electroactiva siguin petites no és suficient ja que si el material encapsulant té un gruix gran, l'elèctrode resultant serà massa gran per analitzar volums massa petits o cèl·lules. Per aquest motiu, es

requereixen mètodes especials per construir microelèctrodes de mides globals de l'ordre dels micròmetres, com per exemple aïllar un fil conductor o una fibra de carboni de diàmetre microscòpic en un microcapil·lar de vidre²⁶, o electropolimeritzant un film de polímer passivant al voltant de la fibra de carboni. Aquest tipus de microelèctrodes són útils per a mesures extracel·lulars *in vivo* ja que són relativament poc invasius, no només pels teixits, sinó també gràcies a les diminutes quantitats de material electrolitzat. Així, es poden trobar exemples de microelèctrodes aplicats en l'estudi de fetges de rates²⁷, en la determinació d'exocitosi a cèl·lules pancreàtiques de rates i de persones²⁸, en l'estudi de teixits cardíacs^{29,30} i cardiovasculars³¹, en la monitorització de l'activitat de teixits del cervell³²⁻³⁴, i en l'estudi de l'efecte sobre aquesta activitat de drogues³⁵ o d'altres estímuls³⁶, o inclús s'han emprat microelèctrodes en l'estudi de malalties tan importants com el Parkinson³⁷⁻³⁹. També s'han aplicat microelèctrodes en l'estudi de l'activitat elèctrica de teixits musculars^{40,41}, l'activitat neuromuscular en subministrar drogues de diferent natura⁴², la monitorització de pO₂ en teixits animals⁴³, i l'efecte de certs paràsits en teixits musculars⁴⁴, entre d'altres.

Per altra banda, tal com s'ha dit a paràgrafs anteriors, els microelèctrodes suposen una eina molt útil per la mesura de constants cinètiques, tant de reaccions de transferència electrònica com de reaccions acoblades a transferències electròniques. Dos motius bàsics en són els responsables. En primer lloc, amb els microelèctrodes es va aconseguir ampliar el ventall de medis analítics disponibles per mesures amperomètriques, i en segon lloc cal esmentar una elevada eficiència del transport de massa cap a la superfície del microelèctrode que genera un flux de matèria gran que permet monitoritzar productes o intermedis de reacció amb temps de vida tan curts com unes quantes desenes de nanosegons. A més, donada la baixa distorsió de les respostes dels microelèctrodes deguda a la càrrega de la doble capa electroquímica, és a dir, constants de cel·la baixes, es poden monitoritzar reaccions de transferència electrònica ràpida i de reaccions químiques acoblades mitjançant voltamperometria cíclica d'alta velocitat⁴⁵. Així, fins al moment, el temps de vida més curt que s'ha aconseguit mesurar es troba entre les desenes i les centenes de nanosegons com per exemple el temps de vida del 2,6-difenilpirili abans de produir-se la seva dimerització reductiva en acetonitril que és de 50 ns⁴⁶.

La determinació de constants cinètiques emprant voltamperometria cíclica d'alta velocitat es realitza mesurant la separació entre pics d'oxidació i de reducció de cada voltamperograma. Aquesta tècnica, però, té limitacions imposades per la caiguda òhmica quan les velocitats d'escombrat resulten molt elevades. Altres tècniques emprades per la determinació de constants cinètiques que no tenen aquestes limitacions són per exemple la utilització de la resposta d'estat estacionari en realitzar voltamperogrames cíclics a relativament baixa velocitat d'escombrat emprant ultramicroelèctrodes amb diàmetres de l'ordre dels nanòmetres⁴⁷. Per tal d'utilitzar aquesta tècnica cal que el radi del microelèctrode sigui comparable al valor de D_0/k^0 , on D_0 és el coeficient de difusió de l'espècie electroactiva i k^0 és el valor de la constant cinètica heterogènia, ja que en aquest cas el transport de massa és prou ràpid com perquè la k^0 es pugui determinar a partir de l'anàlisi de la forma del

voltamperograma i de la seva posició a l'eix de potencials⁴⁸⁻⁵⁰. En general, però, existeixen factors que poden portar a una sobreestimació del valor de les constants cinètiques. Per exemple, podria resultar necessari realitzar correccions de doble capa electroquímica, els efectes de migració també podrien generar errors en l'anàlisi electroquímica clàssica de les dades, o inclús es podrien produir errors degut a un segellat defectuós del fil conductor per part del vidre que poden contenir microcavitats que donades les reduïdes dimensions amb les quals es treballa podrien tenir un efecte important en l'estimació de constants cinètiques heterogènies o bé és possible que la superfície conductora estigués de fet formada per un conjunt d'ultramicrozones metàl·liques conductores interconnectades entre si enlloc d'un sol disc.

Un altre exemple de tècniques emprades en la determinació de constants cinètiques és la cronoamperometria d'un⁵¹ o dos⁴⁵ esglaons de potencial. Aquests mètodes proporcionen un mitjà més directe que la voltamperometria cíclica d'alta velocitat d'obtenir constants cinètiques quantitatives i informació mecanística de reaccions ràpides.

Una aplicació més recent dels microelèctrodes es troba en el que s'anomena microscòpia electroquímica (SECM). Aquesta tècnica s'explicà amb detall al capítol 5. Tant aquesta tècnica com les altres aplicacions dels microelèctrodes estan provocant una demanda de mides cada cop més reduïdes, de manera que al llarg dels propers anys caldrà esperar l'aparició de noves tècniques de fabricació de microelèctrodes.

L'elevada selectivitat que ofereixen les molècules i cèl·lules d'origen biològic resulta una motivació important pel desenvolupament de biosensors. Així podem trobar alguns exemples de biosensors amperomètrics com el desenvolupat per Wang *et al.*⁵², els quals fabricaren ultrabiosensors enzimàtics per analitzar mostres en acetonitril i etanol purs i en mescles d'acetonitril i aigua. Els biocatalitzadors tendeixen a presentar major activitat catalítica en medis poc polars i per tant altament resistius, de manera que la utilització de microelèctrodes com a transductors pot minimitzar el problema de caiguda òhmica, fent possible, així, l'anàlisi amperomètrica enzimàtica en aquests medis. Un altre exemple és el treball realitzat per Mao *et al.*⁵³, el qual es basà en la immobilització electrostàtica de xantina oxidasa sobre un film de Nafió recobert d'un film de fenol electropolimeritzat, emprant un microelèctrode de fibra de carboni, per a la monitorització d'hipoxantina en cultius de cèl·lules del miocardi. Altres exemples de biosensors es poden trobar al treball de Senillou *et al.*⁵⁴, tot i que en aquest cas es tractà d'un biosensor conductimètric. Aquest consistí en la immobilització d'ureasa o de glucosa oxidasa en un gel d'argila laponita, amb entrecreuaments amb glutaraldehyd, que es va adsorbir sobre un film electrogenerat de poli(pirrolpiridini) emprant un arranjament de microelèctrodes comercial de platí fotolitografiats sobre un suport de Si/SiO₂.

Un aspecte a considerar en la construcció de sensors químics amb detecció amperomètrica basats en microelèctrodes és la modificació dels mateixos per tal de fer-los selectius a l'analit⁵⁵. Aquesta modificació s'ha realitzat majorment mitjançant la formació de capes primes a la superfície

dels microelèctrodes emprant una ampla gamma de materials que poden anar des de polímers electroactius sols⁵⁶⁻⁵⁸ o amb material immobilitzat sobre els mateixos⁵⁹, fins a material biològic o químic directament adsorbit o enllaçat covalentment a la superfície del microelèctrode, que normalment consisteix en or, platí o fibra de carboni.

6.2. Desenvolupament de microelèctrodes basats en compòsits conductors rígids

En el present treball es desenvoluparan microelèctrodes basats en compòsits conductors rígids. Tot i la versatilitat de formes i mides que permet l'ús de compòsits conductors rígids de dispersió, són pocs els exemples que es poden trobar a la literatura de microelèctrodes basats en aquests materials⁶⁰⁻⁶³. Aquests microelèctrodes tenen diàmetres que van des d'aproximadament 200 μm ⁶¹ fins a 2 mm⁶³. Tot i la gran varietat de materials disponibles per a la preparació de compòsits conductors rígids, fins al moment només s'han publicat articles emprant compòsits d'epoxi-grafit^{60,62} i de sílica-grafit⁶³. A més, les mides més petites assolides en treballs anteriors no baixen de 200 μm . En el present treball s'aprofitarà la versatilitat dels compòsits en quant a fabricació d'elèctrodes de diferents mides i formes per construir microelèctrodes de 25 μm de diàmetre. Amb aquest objectiu s'escolliran dos dels compòsits descrits a la part II d'aquesta recerca i es tornaran a optimitzar emprant grafít de mida de partícula de l'ordre dels 2 μm . Amb aquests compòsits es construiran microelèctrodes i es caracteritzaran utilitzant tècniques electroquímiques i microscòpia electrònica.

6.2.1. Selecció dels compòsits i dels solvents

Com s'ha vist als capítols anteriors, s'han preparat diversos compòsits conductors rígids compatibles amb medis no aquosos. D'aquests compòsits s'han seleccionat per la construcció de microelèctrodes únicament dos, el compòsit d'Araldite-M/HY5162-60% grafít i el d'Araldite-PY302-2/HY943-60% grafít. Aquests dos compòsits van presentar molt bones característiques de resposta, temps de vida llargs i reproductibilitat dels resultats molt satisfactòria en diferents solvents. El compòsit basat en Araldite-M va presentar bona estabilitat electroquímica en acetonitril, acetona i etanol, mentre que el compòsit basat en Araldite-PY302-2 va presentar bona estabilitat en metanol, etanol i hexà:etanol (1:1 v:v).

L'acetonitril és un dels solvents més emprats en cromatografia i moltes substàncies d'interès analític presenten bona solubilitat en aquest medi. L'hexà és un solvent molt hidrofòbic, de manera que es pot predir una bona estabilitat enzimàtica en aquest solvent, qualitat molt important si es preveu aplicar aquests compòsits en el desenvolupament de biosensors. A més, l'hexà serà bon dissolvent per molècules orgàniques de pes molecular molt elevat, que seran altament hidrofòbiques.

Per aquests motius, l'acetonitril i l'hexà són solvents interessants on es podrien utilitzar microelèctrodes i donada l'estabilitat electroquímica dels compòsits d'Araldite-M i d'Araldite-PY302-2 en acetonitril i hexà respectivament, aquests compòsits van ser els escollits per al desenvolupament de microelèctrodes basats en compòsits conductors rígids. Tot i així, degut a la baixa solubilitat dels electròlits suport coneguts en hexà, es va utilitzar metanol per caracteritzar electroquímicament el microelèctrode d'Araldite-PY302-2, ja que aquest compòsit va presentar bona estabilitat també en aquest solvent.

6.3. Reactius i instruments

Es van emprar els mateixos reactius que en els apartats anteriors. Per a la construcció dels microelèctrodes es van emprar fils de coure de 1 mm i de 0.2 mm i fils de platí de 25 µm de diàmetre es van obtenir de Goodfellows, i vidre tou de 3 mm de diàmetre intern. El grafit emprat en la construcció dels compòsits en aquest cas va ser de 1-2 µm de mida de partícula, proveït per Fluka.

6.4. Optimització de compòsits emprant grafit de 1-2 µm de mida de partícula

Fins al moment, la preparació dels compòsits conductors rígids es va realitzar emprant grafit de 50 µm de mida de partícula. Els microelèctrodes que es construïran en aquesta part, però, tindran diàmetres de 25 µm, i per tant la utilització de grafit de 50 µm de mida de partícula resultà inviable. Per tant es va decidir utilitzar un grafit sintètic de mida de partícula de 1-2 µm.

Per tant, un cop més va caldre optimitzar el percentatge de grafit emprat en la preparació del compòsit. Amb aquest objectiu es van construir cilindres de vidre plens dels compòsits basats en les resines d'Araldite-M i d'Araldite-PY302-2, amb diferents percentatges de grafit. Un cop els compòsits van curar i es van polir, es van mesurar les resistències d'aquests cilindres per a construir les corresponents corbes de percolació, i es van realitzar imatges per microscòpia electrònica.

La corba de percolació obtinguda per al compòsit d'Araldite-M es mostra a la figura 6.4-1, i les imatges obtingudes de cada compòsit amb cada un dels percentatges de grafit es mostren a les figures 6.4-2 i 6.4-3. Pel que fa als límits de percolació es van obtenir de la gràfica de percolació (logaritme de la resistència vers logaritme del percentatge de grafit), tal com es va fer anteriorment per als compòsits que contenien grafit de mida de partícula de 50 µm, i es mostren al quadre 6.4-1.

Quadre 6.4-1. Primer límit de percolació		
<i>Polímer</i>	<i>Araldite-M/HY6251</i>	<i>Araldite-PY 302-2-HY943</i>
<i>Percentatge de grafit en pes (%)</i>	30	30
<i>Percentatge de grafit en volum (%)</i>	47.5	44.9

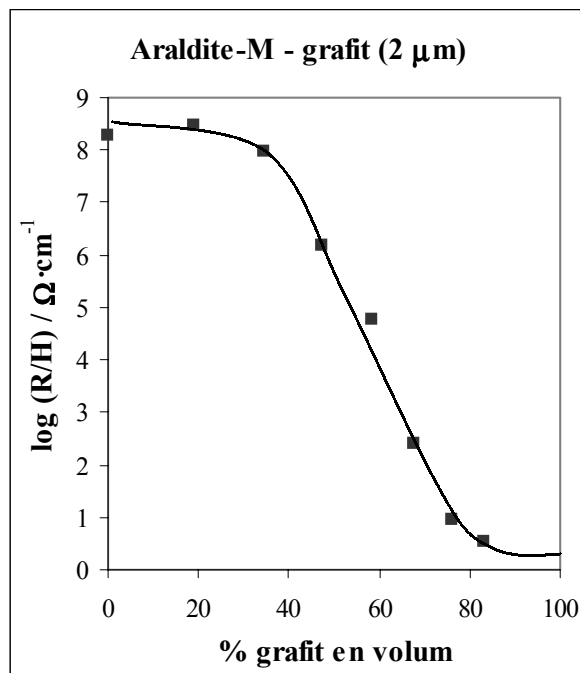


Figura 6.4-1. Corba de percolació corresponent al compòsit format per Araldite-M/HY-5162. Les resistències es van normalitzar pel gruix del cilindre (H). La línia puntejada correspon a la tendència general de la corba de percolació.

A partir d'aquestes dades es dedueix que els percentatges de grafit més adequats per aconseguir una conductivitat màxima del compòsit i una superfície més llisa han de ser 60% o 70%. En percentatges menors a 60% presenten una conductivitat massa petita pel desenvolupament de materials sensors electroquímics, degut a les cavitats originades per aire atrapat al polímer durant el procés d'homogeneïtzació i curat del polímer.

Percentatges superiors al 60% generen pastes molt seques i difícils d'homogeneïtzar. Aquestes compòsits, un cop curats, són fràgils, de manera que es desprenen petits trossos de material amb molta facilitat. A més, aquest fet podria causar problemes de reproductibilitat a l'hora de modificar aquests materials afegint mediadors, enzims o altres modificadors, ja que resultaria molt difícil aconseguir homogeneïtat abans que el compòsit curi. Per tant, finalment es va escollir el percentatge de grafit del 60% ja que és el que presenta les característiques físiques més adequades per construir un compòsit conductor.

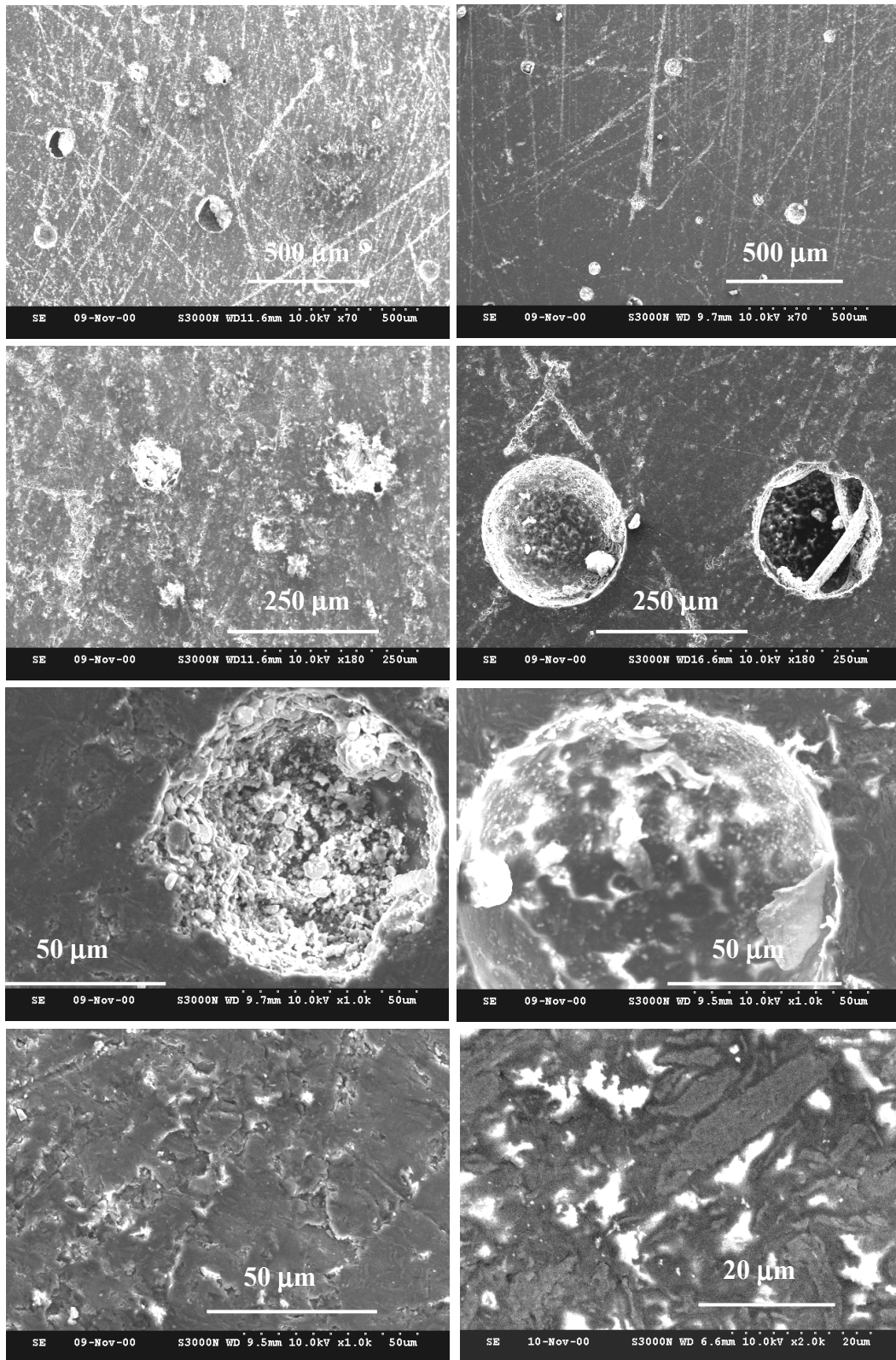


Figura 6.4-2. (A) Imatges preses per microscopi electrònic d'un compost d'Araldite-M/HY-5162 amb un 30 % de grafit de 2 μm de mida de partícula. El potencial d'acceleració va ser 10 keV.